

Многочастичная модель циклического транспорта вокруг фотосистемы 1.

В работе (Коваленко, Устинин et al. 2003) построена многочастичная модель для описания процессов циклического транспорта электронов вокруг PSI с учетом пространственной организации тилакоидной мембраны и затрудненной диффузии подвижных переносчиков нами был использован метод многочастичного моделирования. Модель циклического транспорта электронов представляет собой трехмерную сцену (рис. 3), в которую включены: мембрана тилакоида, внутритилакоидное пространство, люменальное пространство. Комплексы PSI локализованы в стромальных областях мембран, поэтому модель обладает латеральной гетерогенностью, т.е. присутствуют две различные смежные мембранные области – гранальная и стромальная. На сцене в стромальной области находятся фиксированные в данной версии модели мультиферментные комплексы PSI, цитохромный комплекс, ферредоксин-пластохинон редуктаза (FQR) и подвижные переносчики электрона Pс, Fd и PQ. В гранальной области находятся комплексы фотосистемы 2 (PSII) и цитохромный комплекс и подвижные переносчики переносчики электрона пластоцианин (Pс) и пластохинон (PQ). Многочастичная модель основана на предположении, что циклический транспорт электронов вокруг PSI происходит в межгранных, стромальных ламеллах, а в гранальных и концевых областях мембран происходит линейный транспорт (Albertsson 2001). Молекулы Pс и PQ, диффундируя в латеральном направлении, могут мигрировать из стромальных областей мембраны в гранальные, и наоборот.

Процесс фотосинтетического переноса электрона можно разделить на три стадии:

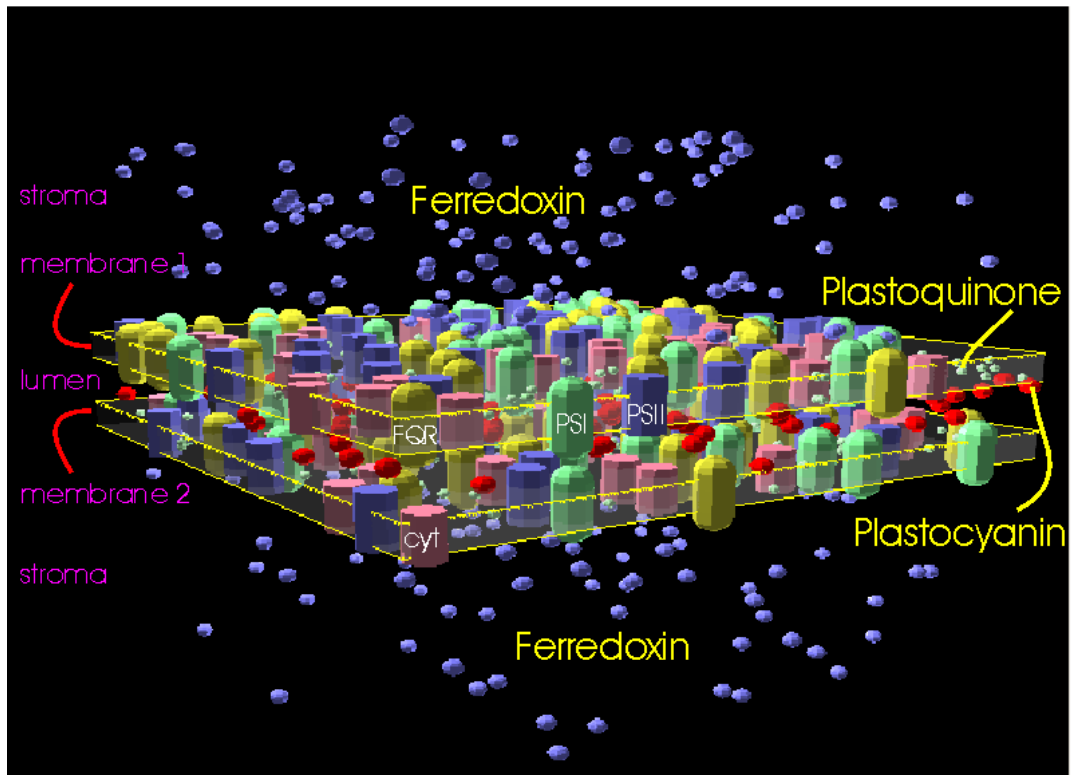
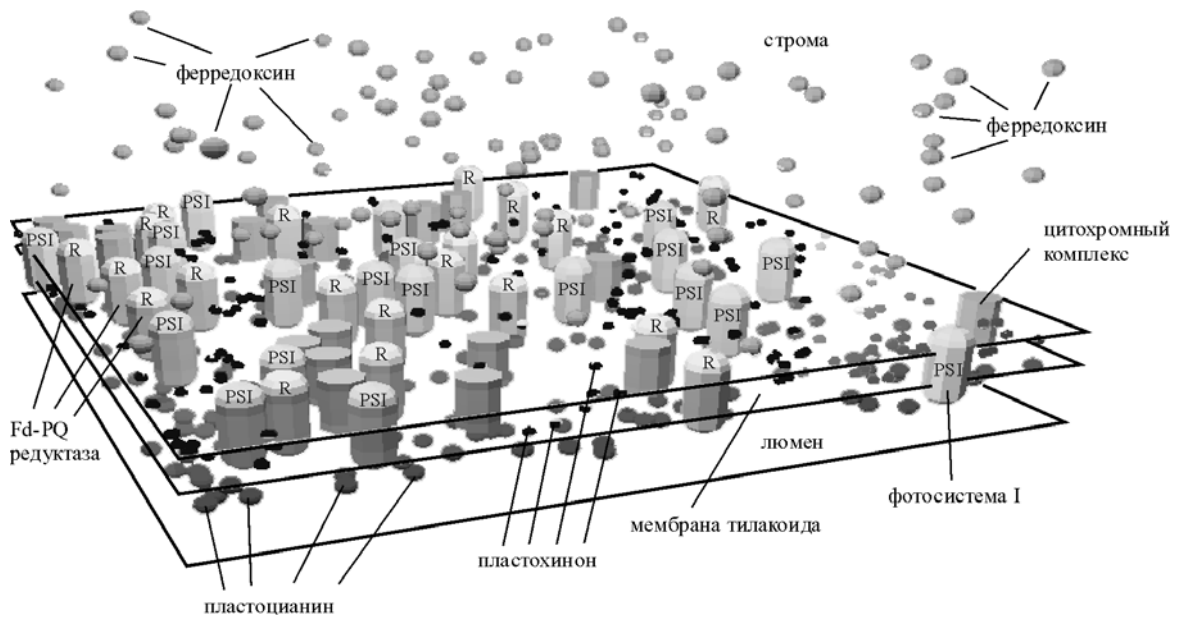
1. перенос электрона внутри мультиферментных пигмент-белковых комплексов
2. взаимодействие комплексов и подвижных переносчиков и передача электрона между комплексом и подвижным переносчиком
3. диффузионные стадии: перенос электрона подвижными переносчиками

В данной версии модели основное внимание было уделено процессам переноса электрона подвижными переносчиками и взаимодействию комплексов и подвижных переносчиков. Перенос электрона внутри мультиферментных комплексов определялась значением вероятности переноса электрона в комплексе, при этом не учитывались различные стадии переноса электрона внутри комплексов.

Для моделирования движения подвижных переносчиков Pс, Fd, PQ в пространствах соответствующих компартментов использовался математический аппарат описания броуновского движения, с учётом геометрических ограничений, налагаемых сформированной модельной сценой. Предполагается, что движение частицы происходит в вязкой среде под действием случайной силы, возникающей из-за столкновений с молекулами среды. Как показано в (Дой and Эдвардс 1999), для описания такого процесса можно использовать уравнение Ланжевена, описывающее изменение каждой координаты со временем под действием случайной силы:

$$\xi \frac{dx}{dt} = f(t), \quad (1)$$

где ξ - коэффициент трения, $f(t)$ - случайная сила. Случайная сила распределена нормально с нулевым средним и дисперсией, равной $2kT\xi$. Здесь k – постоянная Больцмана, T – температура. Коэффициент трения для сферической частицы определяется по формуле $\xi = 6\pi\eta a$, где η - вязкость среды, a – радиус частицы. На боковых границах области моделирования используются зеркальные граничные условия, также учитывается отражение частиц от физических поверхностей, включая мембрану и белковые комплексы. Каждый из участников движения может переносить или не переносить электрон, что при визуализации динамики системы в виде «мультифильма» изображается условным изменением цвета частицы.



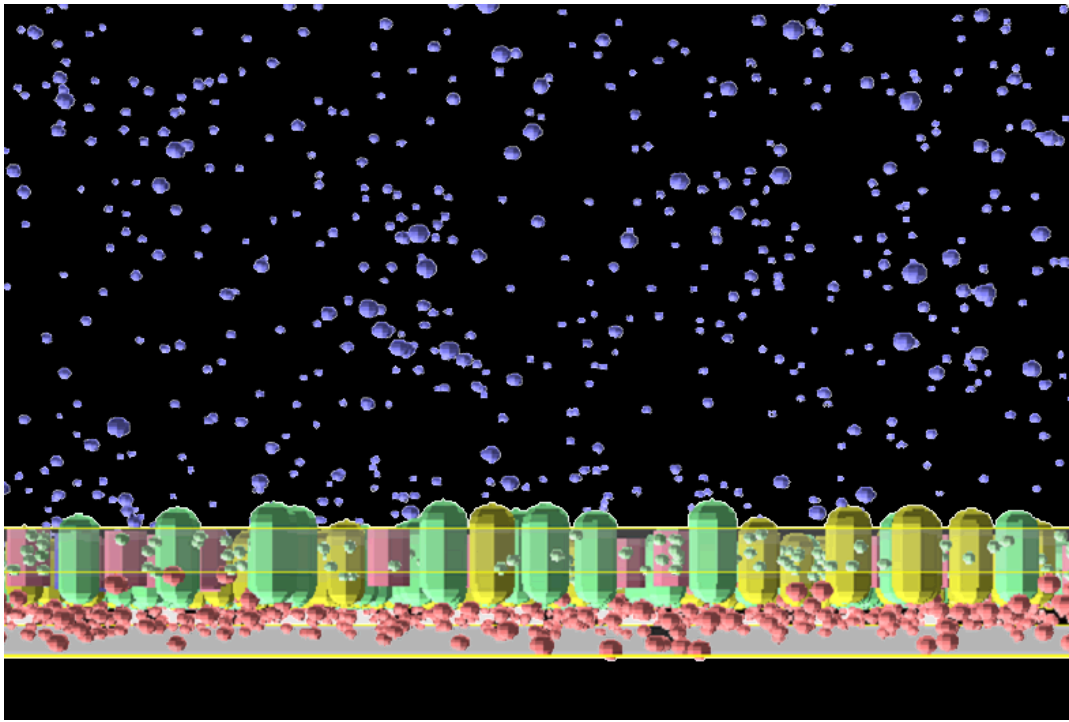


Рис. 2. Визуализация трехмерной сцены «прямой» модели циклического транспорта электронов. Показаны часть мембраны тилакоида, люменальное и стромальное пространства. Вверху: вид сверху под углом. Внизу: вид сбоку, в плоскости тилакоидной мембраны.

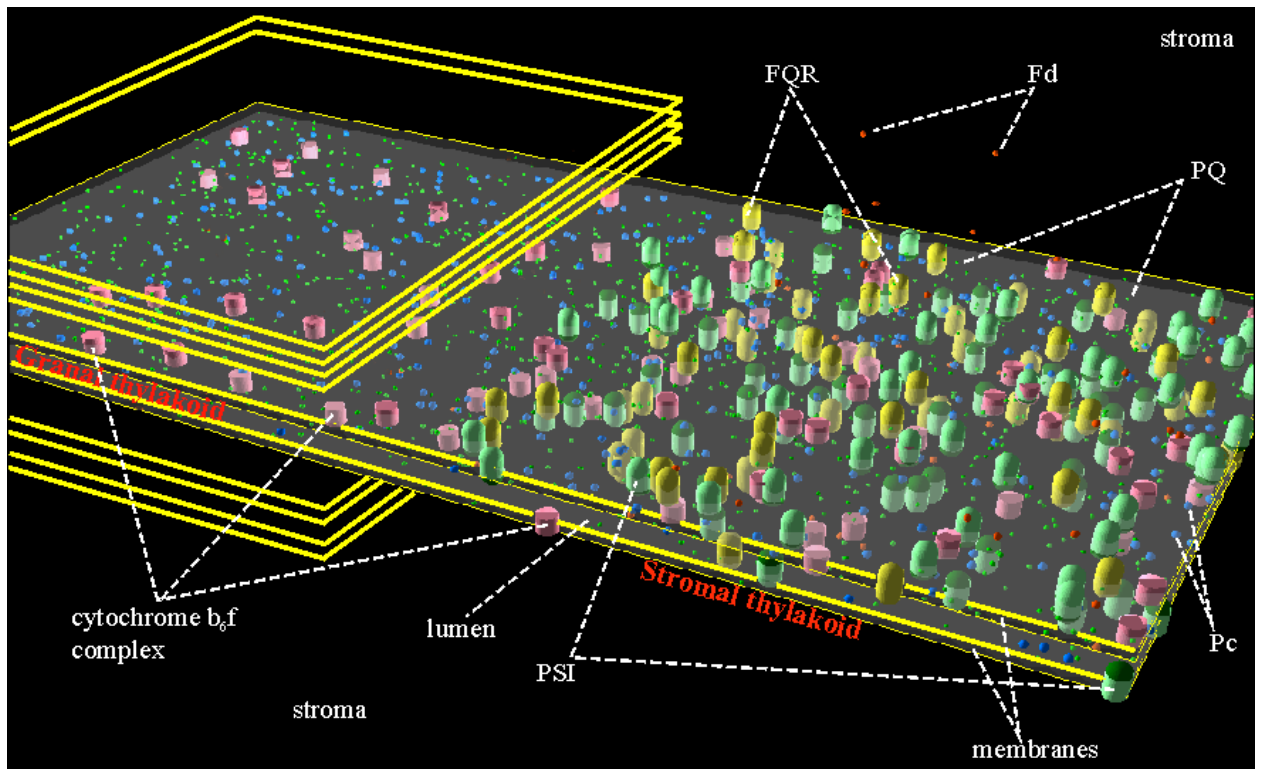


Рис. 3. Визуализация трехмерной сцены многочастичной модели циклического транспорта электронов. Показаны гранальная и стромальная области, часть мембраны тилакоида, люменальное и стромальное пространства.

Механизм взаимодействия подвижного переносчика и комплекса и передачи электрона следующий: если частица подвижного переносчика в результате хаотического броуновского движения приближается к белковому комплексу на расстояние, меньшее некоторого эффективного радиуса взаимодействия между ними, то с некоторой вероятностью происходит посадка переносчика на комплекс. Известно, что электростатическое взаимодействие играет важную роль в процессах взаимодействия комплексов и подвижных переносчиков электрона. Рассчитанные в многочастичной модели вероятности докинга из экспериментально найденных констант скоростей связывания подвижного переносчика и комплекса неявно включают в себя электростатическое взаимодействие подвижного переносчика и комплекса.

Концентрации и размеры комплексов выбирали в соответствии с литературными данными. 20% мембран в тилакоиде существует в виде стромальных ламелл. Плотность PSI брали равной $8.47 \cdot 10^{-4}$ частиц/нм², *cyt b₆f* – $3.5 \cdot 10^{-4}$ частиц/нм², PSII – $2.2 \cdot 10^{-4}$ частиц/нм² (Albertsson 2001). Количество комплексов FQR считали равным количеству комплексов PSI. Диаметр комплекса PSI в латеральном направлении принималась равной 13 нм (с CCKI), *cyt b₆f* – 9 нм, PSII – 13 нм. Комплексы PSII в гранальной области на рис. 8 не указаны, однако их присутствие учитывалось при расчете диффузии молекул Pc и PQ.

Внутренняя часть тилакоида (люмен) ограничена мембранами. В люмене диффундируют частицы Pc, осуществляющие перенос электрона между *cyt f* и PSI. Внутри мембраны латеральный перенос электронов от FQR к *Cyt b₆f* происходит посредством мобильного переносчика PQ. В строме (снаружи тилакоида) движутся частицы Fd, перенося электроны от PSI к FQR. Частицы Fd движутся в водной фазе, коэффициент диффузии Fd считали равным 10^{-10} м² с⁻¹. Коэффициент диффузии Pc считали равным 10^{-11} м² с⁻¹. Коэффициент диффузии PQ в тилакоидной мембране находится в пределах от 0.3 до $3 \cdot 10^{-9}$ см² с⁻¹.

Комплексы PSI могут принять электрон от Pc, под действием света перенести его на другую сторону мембраны и передать ферредоксину. Освещенность в модели задается вероятностью переноса электрона с P700 на A, пропорциональной интенсивности света. Дальнейший циклический транспорт включает процесс окисления Fd (локализован в строме) и восстановления PQ (локализован внутри мембраны) с участием комплекса FQR. Окисление PQ и восстановление Pc (локализован в люмене) происходит с участием цитохромного трансмембранного комплекса по механизму Q-цикла. Молекула пластохинола, в результате диффузии попавшая на р-сайт цитохромного комплекса, передает первый электрон на центр Риске, откуда электрон в свою очередь передается на пластоцианин. Второй электрон передается на высокопотенциальный цитохром b_h, после чего попадает на молекулу пластохинона, находящуюся на п-сайте цитохромного комплекса. Окисленная молекула пластохинона уходит с р-сайта, ее место занимает вторая молекула пластохинола. Первый электрон передается на следующую молекулу пластоцианина, а второй электрон на полувосстановленную молекулу пластохинона на п-сайте. Pc является донором для фотоактивного пигмента P700 (донорная часть комплекса PSI). Таким образом, цикл замыкается.

Движение подвижных переносчиков, их взаимодействие с комплексами и процессы переноса электронов в прямой модели определяются набором параметров. Параметрами модели являются коэффициенты диффузии отдельных переносчиков, эффективные радиусы взаимодействия переносчиков и комплексов, вероятности связывания подвижного переносчика с комплексом, характерное время переноса электрона в комплексе, концентрации комплексов и переносчиков, характер распределения комплексов на мембране и т.д. Некоторые из этих параметров, например, концентрацию или характер распределения комплексов на мембране, можно задавать исходя непосредственно из экспериментальных данных (электронной и атомно-силовой микроскопии) или физических представлений (эффективные радиусы взаимодействия). Другие параметры, например, вероятности посадки подвижных переносчиков на

комплексы, можно оценить, исследуя влияние этих величин на кинетические константы взаимодействия комплексов и подвижных переносчиков.

Для определения параметров многочастичной модели нами было проведено моделирование процессов взаимодействия подвижных переносчиков и комплексов на выделенных частицах в растворе. Из моделей экспериментов на частицах, были получены параметры многочастичной модели для взаимодействия Pс и cyt f, Pс и PSI, Fd и PSI, PQ и cyt b₆f. Проверка правильности полученных значений параметров осуществлялась путем моделирования отдельных стадий транспорта электрона в тилакоидной мембране.

Построенная многочастичная модель позволяет моделировать наблюдаемые в эксперименте кинетические кривые изменения редокс-состояний отдельных компонентов системы и изучать кинетику других переменных модели. Кроме того, многочастичное моделирование дает возможность изучать зависимость характеристик системы от пространственных особенностей распределений пигмент-белковых комплексов в мембране, геометрических параметров мембраны и внутритилакоидного пространства, геометрических размеров и формы переносчиков, особенностей докинга подвижных переносчиков на молекулярных комплексах и других характеристик системы.

Рассмотрим результаты моделирования ферредоксин-зависимого циклического транспорта вокруг PSI. В начальный момент времени электроны находились на P700, пластоцианине и частично в пуле пластохинонов. В численном эксперименте систему в течении 1.5 с освещали (насыщающее освещение), затем наблюдали кинетику темнового восстановления P700⁺. В результате освещения наблюдалось изменение редокс-состояний участников электронного транспорта: восстановление пула пластохинонов и окисление пластоцианина и P700, система достигала стационарного состояния. За время освещения восстановленный пластохинон равномерно распределялся в стромальных и гранальных областях мембраны.

После выключения света электроны из пула пластохинонов продолжали поступать на пластоцианин через цитохромный комплекс. Это наблюдалось в обеих областях мембраны, стромальной и гранальной, т.к. цитохромный комплекс распределен в мембране однородно. В стромальной области восстановленный пластоцианин сравнительно быстро восстанавливает пигмент реакционного центра фотосистемы 1 P700 (характерное время 200 мс), поскольку в стромальной области среднее расстояние между PSI и cyt b₆/f невелико и составляет 20 нм. Этот процесс соответствует быстрой фазе восстановления P700⁺. Как в эксперименте, так и в модели быстрое восстановление P700⁺ происходит не полностью, остается фракция окисленных P700⁺. Многочастичная модель показывает, что причина этого в том, что часть электронов находится на пластохиноне и пластоцианине в гранальных областях мембраны, в которых отсутствует PSI.

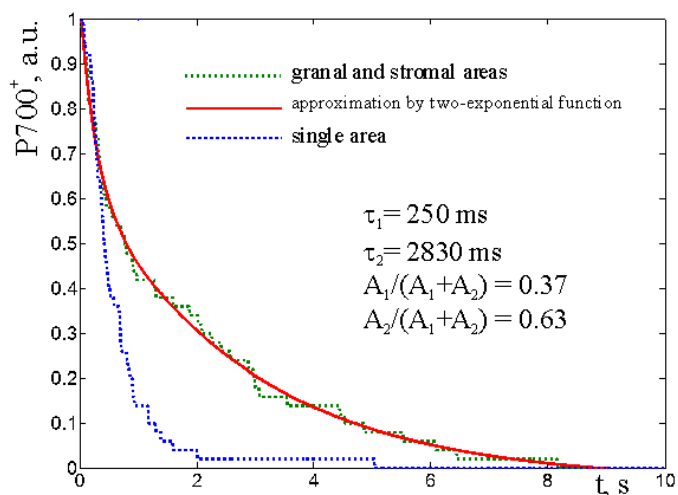


Рис. 4. Зеленая линия - кривая восстановления P700 при наличии двух областей мембраны (стромальной и гранальной) при распределении комплексов в этих областях в соответствии с

данными электронной микроскопии. Красная линия – представление модельной кривой темнового восстановления фотоокисленного $P700^+$ в виде суммы двух убывающих экспонент: $A(t) = A_1 \exp(-k_1 t) + A_2 \exp(-k_2 t)$, где A_1 , A_2 – амплитуды быстрого и медленного компонентов восстановления, соответственно, τ_1 , τ_2 – характерные времена и k_1 , k_2 – показатели экспонент быстрого и медленного компонентов, соответственно. Синяя линия - кривая восстановления $P700$ при однородном распределении всех комплексов в мембране.

Модель показывает, что при дальнейшей диффузии молекул PQ и Pс электроны постепенно возвращаются в стромальную область мембраны и происходит дальнейшее восстановление $P700^+$. Время этой фазы определяется геометрией и размерами мембраны и составляет от 1 до 10 с. Таким образом, результирующая кривая восстановления фотоокисленного $P700$ приближенно представляет собой сумму двух экспонент (рис. 4). Многочастичная модель естественно объясняет наличие двух фаз темнового восстановления $P700$ пространственной гетерогенностью системы.

Амплитуда и вклад быстрой компоненты, как показало моделирование редокс-превращений $P700$, зависит от концентрации добавленного Fd. В эксперименте реакцию смесь освещали в течение 30 с интенсивным белым светом для образования пула восстановленного Fd, необходимого для функционирования циклического транспорта электронов. Если степень восстановленности добавляемого Fd задана, общее число электронов в системе будет увеличиваться с увеличением концентрации Fd, в условиях, когда диурон блокирует приток электронов от PSII и естественного донора электронов – системы разложения воды. Увеличение общего числа электронов в системе циклического транспорта приводит к увеличению амплитуды быстрой фазы восстановления $P700$ и ее вклада, однако не влияет на ее скорость, которая определяется скоростями переноса электрона на отдельных стадиях циклического транспорта, остающимися неизменными.

Таким образом, кинетика темнового восстановления $P700^+$ определяется не только концентрациями и редокс-состояниями реагентов, но также пространственным распределением молекул реагирующих веществ, геометрией и размерами системы и особенностями процессов диффузии подвижных переносчиков. На многочастичной модели показано, что медленная фаза кривой восстановления фотоокисленного $P700^+$ при циклическом транспорте электронов вокруг PSI является диффузионно-контролируемой стадией и определяется процессами диффузии восстановленных молекул пластохинона и пластоцианина из гранальной в стромальную области тилакоидной мембраны, а быстрая фаза представляет циклический транспорт с участием ферредоксина. Результаты, полученные на прямой модели, соответствуют факту, что в темноте пластоцианин в основном сосредоточен в стромальных областях мембран, в межгранных тилакоидах, и при освещении перемещается в латеральном направлении из стромальных в гранальные области.

Albertsson, P.-A. (2001). "A quantitative model of the domain structure of the photosynthetic membrane." *TRENDS in Plant Science* **6**(8): 349-354.

Дой and Эдвардс (1999). *Динамическая теория полимеров*. Москва, Мир.

Коваленко, И. Б., Д. М. Устинин, et al. (2003). "Экспериментальное и теоретическое исследование процессов циклического электронного транспорта вокруг фотосистемы 1." *Биофизика* **48**(4): 656-665.